WIRKUNG VON ALPHA-REZEPTOR AGONISTEN UND ALPHA-REZEPTOR ANTAGONISTEN AUF PIAVENEN DER KATZE

Klaus ULRICH

Diss München
1983

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 201 47 74

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546814_0026

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. med. Klaus Thurau

Prof. Dr. med. Eckehart Gerlach

Prof. Dr. med. Gerrit ten Bruggencate

WIRKUNG VON ALPHA-REZEPTOR AGONISTEN UND ALPHA-REZEPTOR ANTAGONISTEN AUF PIAVENEN DER KATZE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

KLAUS ULRICH

aus

München

1983

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät

der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Wolfgang Kuschinsky

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Klaus Thurau

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 28.6.1983

MEINEN ELTERN GEWIDMET

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

2. Methoden und Materialien

2.1. Versuchsvorbereitung und Präparation

2.2. Versuchsablauf

3. Ergebnisse

4. Diskussion

4.1. Diskussion der Methodik

4.2. Diskussion der Ergebnisse

4.2.1. Noradrenalin

4.2.2. Alpha-Rezeptoren

4.2.3. Alpha-Rezeptor-Antagonisten

4.2.4. Alpha-Rezeptor-Agonisten

4.3. Allgemeine Diskussion

5. Zusammenfassung

Literatur

Lebenslauf

1. Einleitung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Wirkung von alpha-Rezeptor stimulierenden und blockierenden Substanzen. Hierzu wurden Versuche an der narkotisierten Katze unternommen, und zwar galt das Interesse den postsynaptischen alpha-adrenergen Rezeptoren an den Hirnvenen, die durch die Pia mater verlaufen.

Das Konzept der Rezeptoren spielt heute in der Physiologie des Menschen eine bedeutende Rolle, nicht zuletzt auch im Hinblick auf einen eventuellen therapeutischen Ansatz. Alle derzeitigen Vorstellungen über Wirkung und Spezifität eines Pharmakons basieren auf der Annahme, daß der erste Schritt einer Pharmakonwirkung in der Bildung eines reversiblen Komplexes zwischen dem Pharmakonmolekül und einer, allgemein als Rezeptor bezeichneten, zellulären Struktur zu sehen sei (11).

Der Begriff des Rezeptors wurde ursprünglich von Langley im Jahre 1906 postuliert, und von Paul Ehrlich (21) weiterentwickelt. Er verlangte von einem Rezeptor drei Kriterien:

a) Ein Rezeptor ist eine fest in die Zellstruktur integrierte biochemische Gruppierung.
b) Diese Gruppierung reagiert mit einem Pharmakon.
c) Die Reaktion des Pharmakons mit dieser Gruppierung führt zu einer Funktionsänderung der Zelle.

Diese Kriterien sind im Großen und Ganzen auch heute noch

gültig. Hinsichtlich der Struktur von Rezeptoren wurden in den letzten Jahren viele Untersuchungen angestellt (20). Versuche, die Pharmakon-Rezeptor-Reaktionen in vitro zu untersuchen, verliefen jedoch leider alle erfolglos, weil zum Einen beim Extraktionsprozeß der Pharmakon-Rezeptor-Komplex zerstört, und zum Anderen die Funktionsfähigkeit stark beeinträchtigt wird. Aufgrund anderer experimenteller Befunde (10, 46) wurde vermutet, daß Rezeptoren in proteinähnlichen Makromolekülen lokalisiert sind. Die dreidimensionale Struktur einiger solcher Proteine konnte durch neuere Untersuchungsmethoden bereits aufgeklärt werden (22). Auch einige biochemische Charakterisierungen, etwa die des cholinergen Rezeptors, sind bereits gelungen (47).

Die Eigenschaften der Rezeptoren gleichen wahrscheinlich denen aktiver oder allosterischer Zentren von Enzymen, und ihre Größenordnung dürfte der von Pharmakonmolekülen nahekommen, welche mit Rezeptoren Komplexe bilden können. Die Bindung einer Substanz an einen Rezeptor schließlich kann eine Folge von chemischen oder auch Konformationsänderungen auslösen, die dann eine biologische Reaktion zur Folge haben. Ob nach einer Bildung des Pharmakon-Rezeptor-Komplexes eine Wirkung eintritt, und wie stark diese dann ausfällt, wird durch die "intrinsic activity" bestimmt. Man muß hierzu unterscheiden zwischen der Bindungsstärke (affinity) und der Wirkungsstärke (potency) eines Pharmakons. Die Bindungsstärke ist ein Maß für das Bestreben einer Substanz, sich

mit einem Rezeptor zu verbinden. Je größer die Bindungsstärke einer Substanz für einen Rezeptor ist, umso geringer ist die Konzentration, die benötigt wird, um alle Rezeptoren zu besetzen. Es besteht jedoch keine direkte Beziehung zwischen Bindungsstärke und intrinsic activity, d.h. es gibt Substanzen, die eine hohe Affinität zum Rezeptor besitzen und trotzdem keinerlei eigene Wirkung hervorrufen. Solche Substanzen werden als Antagonisten bezeichnet. Sie haben, wie bereits erwähnt, keine eigene Wirkung, können aber diejenige gegenteiliger Substanzen, sogenannter Agonisten, sehr wohl blockieren, indem sie auf Grund ihrer Affinität die Rezeptoren besetzen und damit die Anlagerung dieser Agonisten verhindern. Agonisten sind alle diejenigen Substanzen, die in der Lage sind, eine Antwort der Zellen herbeizuführen. Als Vollagonisten werden sie bezeichnet, wenn die Antwort maximal ausfällt, als Teilagonisten, wenn die Reaktion zwar qualitativ gleich, in ihrer Intensität aber geringer ist. Die intrinsic activity von Vollagonisten ist definitionsgemäß 1, während die von Antagonisten mit 0 angegeben wird. Die intrinsic activity von Teilagonisten bewegt sich dementsprechend zwischen 0 und 1 (24).

Die Vermittlung der biologischen Reaktion geschieht wahrscheinlich durch Botenstoffe (second messengers), die im Intrazellulärraum entstehen oder dorthin gelangen. Sie sind mit dem Pharmakon weder identisch noch haben sie wesentliche Teile seiner Struktur inkorporiert und tragen die gewonnene

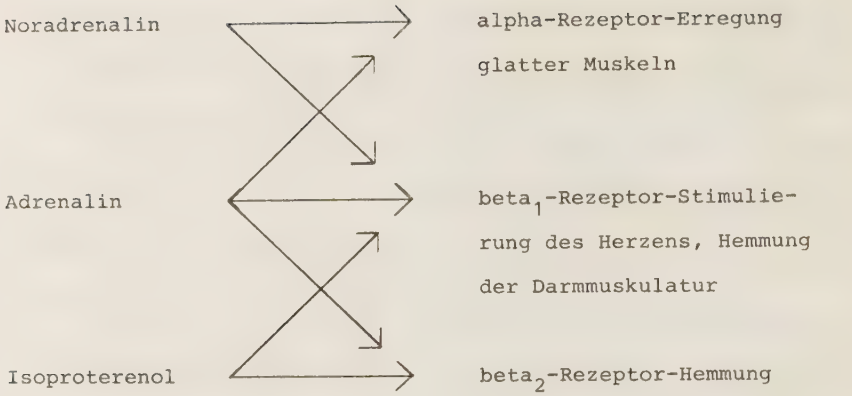


Abb. 1 Wirkungsspektrum der Katecholamine Noradrenalin, Adrenalin und Isoproterenol auf die verschiedenen adrenergen Rezeptoren.

Information zu intrazellulären Strukturen weiter. Die heute am meisten diskutierten Botenstoffe sind die cyclischen Nucleotide cAMP und cGMP, sowie Ca^{++}-Ionen. Auch mehren sich Befunde, aus denen man auf Aktivierung von Guanylatcyclase schließen kann, hervorgerufen durch die Wirkung von Noradrenalin auf Rezeptoren (47).

Diejenigen Rezeptoren, die mit Katecholaminen reagieren, werden zur Unterscheidung von der Vielfalt anderer Rezeptoren, als

adrenerge Rezeptoren bezeichnet. Nach intensiven Untersuchungen mit Katecholaminen in den verschiedensten Geweben und Lokalisationen des Körpers, kam man zu der Erkenntnis, daß es mindestens zwei verschiedene Rezeptortypen geben muß (1). Die beiden Typen werden noch heute als alpha- bzw. beta-Rezeptoren bezeichnet, wobei die alphaadrenergen Rezeptoren mit Noradrenalin und Adrenalin reagieren, was dann als biologische Reaktion eine Erregung glatter Muskeln zur Folge hat. Eine Erregung der betaadrenergen Rezeptoren, die bereits kurz später noch in $beta_1$ und $beta_2$ unterteilt wurden (29), hat eine Erschlaffung glatter Muskulatur, einschließlich des Darms, und eine Stimulierung des Herzens zur Folge (vgl. Abb. 1). Als Agonisten fungieren hierbei Adrenalin und vor allem Isoproterenol.

Inzwischen ist auch bei den alpha-Rezeptoren eine Unterteilung in $alpha_1$ und $alpha_2$ erfolgt. Zweck der vorliegenden Arbeit ist es, einen weiteren Schritt in Richtung dieser Unterteilung von alphaadrenergen Rezeptoren zu tun. Diese Gruppe von Rezeptoren findet sich beispielsweise an der neuromuskulären Synapse, dem Ort der Erregungsübertragung eines Nerven auf einen glatten Muskel (vgl. Abb. 2). Das sympathische Nervenende wird als präsynaptisch bezeichnet. Zwischen beiden befindet sich der synaptische Spalt. Im präsynaptischen Nervenende befinden sich kleine Vesikel, die den Überträgerstoff (Transmitter) enthalten. Dieser Transmitter, im Falle des Sympathikus handelt es sich hierbei um Noradrenalin (32), wird

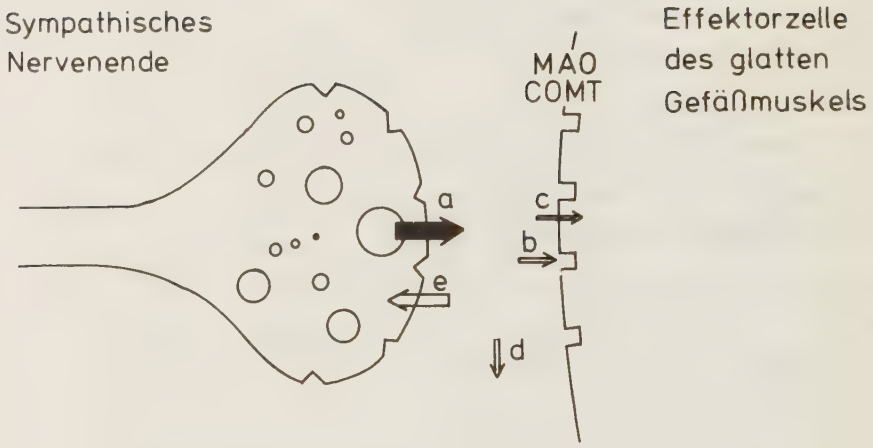


Abb. 2 Schematische Darstellung der neuromuskulären Synapse, der Freisetzung von Noradrenalin, sowie dessen weiteres Schicksal im synaptischen Spalt, nach vorausgegangener Stimulation des Halssympathikus.

2a Aus den Vesikeln des sympathischen Nervenendes freigesetztes Noradrenalin.

2b Noradrenalin, das für die Reaktion mit den postsynaptischen alphaadrenergen Rezeptoren zur Verfügung steht.

2c Noradrenalin, das extraneuronal aufgenommen und (hauptsächlich) von COMT abgebaut wird.

2d Overflow; Noradrenalin, das über venöse Kapillaren abtransportiert wird.

2e Noradrenalin, das vom Nervenende selbst wieder aufgenommen und wahrscheinlich in die Vesikel zurückgespeichert wird.

MAO: Monoaminoxidase

COMT: catechol-o-methyltransferase

im Falle einer Erregung des Nerven aus solchen Vesikeln freigesetzt, und verteilt sich durch Diffusion im synaptischen Spalt. Nur ein kleiner Teil des freigesetzten Noradrenalins (vgl. Abb. 2a) erreicht die Rezeptoren an der Membran der Effektorzelle (vgl. Abb. 2b), um dort mit ihnen zu reagieren. Weitere Anteile unterliegen dem Abtransport durch Kapillaren, dem sogenannten overflow (vgl. Abb. 2d), oder sie zerfallen spontan, bzw. durch enzymatischen Abbau, hauptsächlich durch Catechol-o-methyltransferase (COMT) oder Monoaminoxidase (MAO). Wiederum ein anderer Teil wird in den Intrazellulärraum der Effektorzelle aufgenommen und dort abgebaut (vgl. Abb. 2c; extraneuronale Aufnahme). Der weitaus größte Teil des freigesetzten Noradrenalins, nämlich bis zu 90%, wird jedoch vom freisetzenden Neuron selbst wieder aufgenommen und in die Vesikel zurückgespeichert (vgl. Abb. 2e; neuronale Aufnahme).

Bis zum Jahr 1972 war man der Auffassung, daß die alphaadrenergen Rezeptoren der oben beschriebenen neuromuskulären Synapse alle vom gleichen Typ sind, da die Wirkung der Agonisten und Antagonisten mit diesem Konzept in Einklang stand (6, 23). Vom sympathischen, oder auch noradrenergen Nervenende wußte man, daß es den Transmitter speichert, bei Stimulation freisetzt und auch wieder aufnimmt. Das freigesetzte Noradrenalin gelangt zum Teil an die Rezeptoren der postsynaptischen Effektorzelle (vgl. Abb. 2b), und bewirkt am glatten Muskel eine Kontraktion. Der Abtransport durch Kapillaren (overflow,

Abb. 2d) ist, verglichen mit der ursprünglich freigesetzten Noradrenalinmenge, vernachlässigbar klein. Ist nun aber dieser experimentell meßbare overflow erhöht, so könnte dies erklärt werden durch eine Blockade, entweder der neuronalen oder der extraneuronalen Aufnahme, bzw. durch Blockade der postsynaptischen Rezeptoren. Eine zweite Möglichkeit, den overflow zu erhöhen, wäre natürlich eine vermehrte Freisetzung von Noradrenalin. In vielen Studien wurde berichtet, daß sich der overflow erhöht, wenn zur Stimulation des Nerven gleichzeitig eine alpha-Rezeptoren blockende Substanz, wie beispielsweise Phentolamin oder Phenoxybenzamin, gegeben wird (9). Dieser Effekt wurde dahingehend interpretiert, daß alle alpha-Rezeptoren am Effektororgan blockiert sind, und somit nicht mehr mit dem freigesetzten Transmitter reagieren können. Dieser, so die damalige Meinung, muß deswegen abdiffundieren und erhöht auf diese Weise die ursprüngliche Menge des kapillären Abtransports, ohne daß die Freisetzung davon betroffen wäre. Weitere Theorien besagten, daß der Abtransport durch Hemmung der neuronalen (42) bzw. der extraneuronalen Aufnahme (25) dementsprechend erhöht werden würde. Erst als mit Hilfe der Radioaktivität exakte quantitative Untersuchungen durchgeführt wurden, kam man zu der noch heute gültigen Erklärung, daß alpha-Antagonisten, zusätzlich zur Blockade der neuronalen und extraneuronalen Aufnahme, auch noch eine Erhöhung der Freisetzung von Noradrenalin bewirken. Eine direkte Beziehung zwischen der Blockade der postsynaptischen alpha-Rezeptoren und der Transmitterausschüttung konnte jedoch ausgeschlossen

werden, da man die gleichen Ergebnisse, nämlich Erhöhung des Abtransports, auch in Geweben erzielte, in denen die postsynaptische Antwort durch beta-Rezeptoren vermittelt wurde (31, 38). All diese Erkenntnisse führten zu der Hypothese, daß die erhöhte Freisetzung von Noradrenalin, nach Gabe eines Antagonisten, auf einen blockierenden Effekt an präsynaptischen alpha-Rezeptoren zurückzuführen sei, also Rezeptoren, die an der äußeren Membran des freisetzenden Nervenendes selbst lokalisiert sind. Eine weitergehende These besagt, daß das durch Stimulation ausgeschüttete und als Agonist fungierende Noradrenalin, nach Erreichen einer gewissen Schwelle, präsynaptisch alphaadrenerge Rezeptoren stimuliert und auf diese Weise einen negativen feedback-Mechanismus auslöst, der eine weitere Freisetzung des Transmitters verhindert. Gestützt wird diese Vermutung durch die Erkenntnis, daß alpha-Rezeptor-Agonisten die Noradrenalinfreisetzung hemmen (30, 39), während sie alpha-Rezeptor-Antagonisten erhöhen, gleichgültig, ob die Rezeptoren, welche an der Effektorzelle eine Antwort vermitteln, vom alpha- oder vom beta-Typ sind. Dieser feedback-Mechanismus wirkt wahrscheinlich dadurch, daß vermindert Calcium-Ionen für den Freisetzungsprozeß aus den Vesikeln bereitgestellt werden. Obwohl sowohl der postsynaptische, Konstriktionen vermittelnde alphaadrenerge Rezeptor, als auch der präsynaptische, die Freisetzung von Noradrenalin bestimmende alphaadrenerge Rezeptor, von alpha-Rezeptor-Agonisten stimuliert und von alpha-Rezeptor-Antagonisten blockiert werden können, sind sie sehr wohl von-

einander verschieden und keineswegs identisch.

In vielen folgenden Experimenten mit selektiven Substanzen wurden deutliche quantitative Unterschiede bezüglich Hemmung und Steigerung der Noradrenalinfreisetzung gefunden (17, 32, 40). Daraufhin wurden die alphaadrenergen Rezeptoren in zwei Typen unterteilt, und zwar in den präsynaptischen Hemmtyp $alpha_2$ sowie den postsynaptischen Reiztyp $alpha_1$. Adrenerge Rezeptoren wurden also mit $alpha_2$ bezeichnet, wenn sie sich am sympathischen Nervenende befanden, und $alpha_1$, wenn sie an der glatten Muskulatur eine Konstriktion vermittelten. Diese einfache und anatomische Klassifizierung der alphaadrenergen Rezeptoren war für einige Jahre Thema der widersprüchlichsten Berichte. Durch die Entdeckung eines $alpha_2$-adrenergen Rezeptors außerhalb des Nervenendes wurde dieser Diskussion eine eindeutige Richtung zugewiesen (4). Begünstigt durch die Entdeckung immer selektiverer Substanzen, konnten die Bezeichnungen $alpha_1$ und $alpha_2$ nicht länger automatisch synonym für postsynaptisch und präsynaptisch lokalisierte alphaadrenerge Rezeptoren verwendet werden. Drei weitere Arbeiten (14, 15, 43) bestätigten das Konzept, daß der bisher nur präsynaptisch nachgewiesene $alpha_2$-Rezeptor auch postsynaptisch an der Effektorzelle zu finden ist. Deshalb werden heute die alphaadrenergen Rezeptoren nicht mehr aufgrund ihrer anatomischen Lokalisation klassifiziert. Die Unterteilung wird mit pharmakologischen Mitteln vorgenommen, mit Hilfe selektiver Agonisten bzw. Antagonisten. Mittlerweile kann man sogar sagen, daß sich postsy-

naptisch mehr $alpha_2$-adrenerge Rezeptoren befinden als präsynaptisch, wobei sie bei Sitz am glatten Gefäßmuskel ebenso eine Konstriktion vermitteln können, wie es die klassischen $alpha_1$-Rezeptoren tun (44).

Weitaus die meisten Ergebnisse aus den oben erwähnten Berichten stammen aus Untersuchungen, die an arteriellen Gefäßen vorgenommen worden sind. Dies gilt insbesondere auch für das Gehirn. Hierfür existieren ausführliche Arbeiten über die Vasomotorik von Arterien und Arteriolen, die den Blutfluß zu verschiedenen Hirnstrukturen durch Erhöhen bzw. Senken des Gefäßmuskeltonus regulieren, sei es über Stoffwechselvorgänge oder über aktive sympathische Innervation (26, 27, 28, 45). Bezüglich der Venen des Gehirns gibt es bisher nur sehr spärliche Informationen. Da sich aber im Gehirn, wie auch in anderen Körperregionen, ungefähr 70 % des Blutvolumens in den Venen befindet, kann man vermuten, daß der Gefäßmuskeltonus der Hirnvenen eine wichtige Rolle hinsichtlich der Regulierung eben dieses Blutvolumens, und somit auch des intrakraniellen Druckes spielt.

Diese Vermutung, daß die dynamische Veränderung des Blutvolumens Aufgabe der Venen ist, wurde für periphere Gefäßbetten bereits nachgewiesen (35, 37). Auch wurden die venöse Innervation durch den Sympathikus und die Reaktionsfähigkeit auf Pharmaka in der Peripherie bereits umfassend beschrieben (2, 8, 37). Da nun eine sympathische Innervation

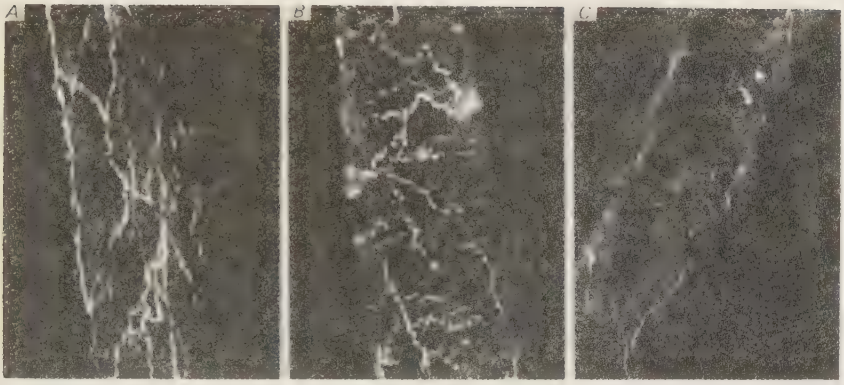


Abb. 3 Präparation von Piamembranen. Darstellung von Piavenen mit ihren Nervenfasern, die Noradrenalin (A) bzw. VIP (B) bzw. Substanz P (C) enthalten (aus 19)

an venösen Hirngefäßen, vergleichbar derjenigen an Arterien, mit Fug und Recht vermutet werden durfte, ließen diesbezügliche Untersuchungen nicht mehr lange auf sich warten. Es gelang, an Piagefäßen der Katze, die Innervation sowohl an Arterien als auch an Venen nachzuweisen (vgl. Abb. 3). In den größeren Venen mit durchschnittlich 200 µm Durchmesser bildeten die Nervenfasern ein feines Netzwerk in der Gefäßwand und in kleineren Gefäßen mit durchschnittlich 50 µm Durchmesser befanden sich die Nervenfasern in der Adventitia, wo sie

sich gelegentlich verzweigten. Dabei befand sich in den gefundenen varikösen Nervenfasern entweder Noradrenalin, Substanz P oder VIP (vasoactive intestinal polypeptide), ganz überwiegend jedoch Noradrenalin. Es fand sich auch, daß die Innervation der Piaarterien zwar dichter ist, als die der Piavenen, doch war die venöse Antwort, nämlich eine Konstriktion auf Noradrenalin, wesentlich stärker, als die der Arterien. Man darf davon ausgehen, daß die Konstriktion durch alpha-Rezeptoren vermittelt wird, da sie durch den alpha-Rezeptor-Antagonisten Phentolamin blockiert werden kann, nicht aber durch den beta-Rezeptoren-Blocker Propanolol (19).

Eine weitere Studie an Piagefäßen der Katze zeigte, daß die Gefäße, und hier insbesondere die Venen, nach vorausgegangener Stimulation des Halssympathikus, tatsächlich mit einer Konstriktion antworteten (3). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der oben erwähnten Untersuchungen, war auch in diesem Fall die Konstriktion der Venen deutlich stärker (17 ± 1 %) als die der Arterien ($11 \pm 0{,}5$ %), und wiederum zeigte die Konstriktion nach beta-Blockade keinerlei Änderung, während sie nach Gabe einer alpha-Rezeptoren blockenden Substanz signifikant vermindert wurde. Wir können deshalb davon ausgehen, daß die Antwort auf das, durch Sympathikusreizung freigesetzte Noradrenalin an den Piavenen der Katze durch alpha-Rezeptoren vermittelt wird.

2. Methoden und Materialien

2.1. Versuchsvorbereitung und Präparation

Für die Experimente dieser Arbeit wurden insgesamt 26 Katzen beiderlei Geschlechts benötigt. Das Gewicht der Tiere, bei denen darauf geachtet wurde, daß sie nicht länger als höchstens fünf Tage im Zwinger zubringen mußten, wurde unmittelbar vor den jeweiligen Versuchen bestimmt, und schwankte zwischen 2,1 und 3,4 kg. Um die totale Ruhigstellung der Katzen zu gewährleisten, wurden diese in Narkose versetzt. Als Anaesthetikum kam Chloralose zur Anwendung, ein Narkosemittel, das sehr gut wirkt, lange vorhält und den Stoffwechsel angeblich wenig belastet. Es wurden 2 g Chloralose in 100 ml physiologischer Kochsalzlösung gelöst und über Nacht bei 50 ^{o} C im Trockenschrank aufbewahrt. Unmittelbar vor Gebrauch wurde die Lösung nochmals verrührt, abfiltriert und nach Abkühlung auf Körpertemperatur in einer Dosierung von 40 - 50 mg/kg Körpergewicht langsam intravenös infundiert. Als Nebenwirkung der Chloralose beobachtete man bei allen Tieren eine immense Steigerung der Eigenreflexe, weshalb die Gabe eines Muskelrelaxans (Pancuronium^{R}, Fa. Organon Teknika) nötig wurde. Pancuronium^{R} wurde in einer Dosierung von 0,13 mg/kg Körpergewicht und Stunde gegeben. Da durch das Muskelrelaxans auch eine Lähmung der Atemmuskulatur eintritt, wurde eine künstliche Beatmung der Tiere notwendig. Zu diesem Zweck wurden die Katzen noch vor Verabrei-

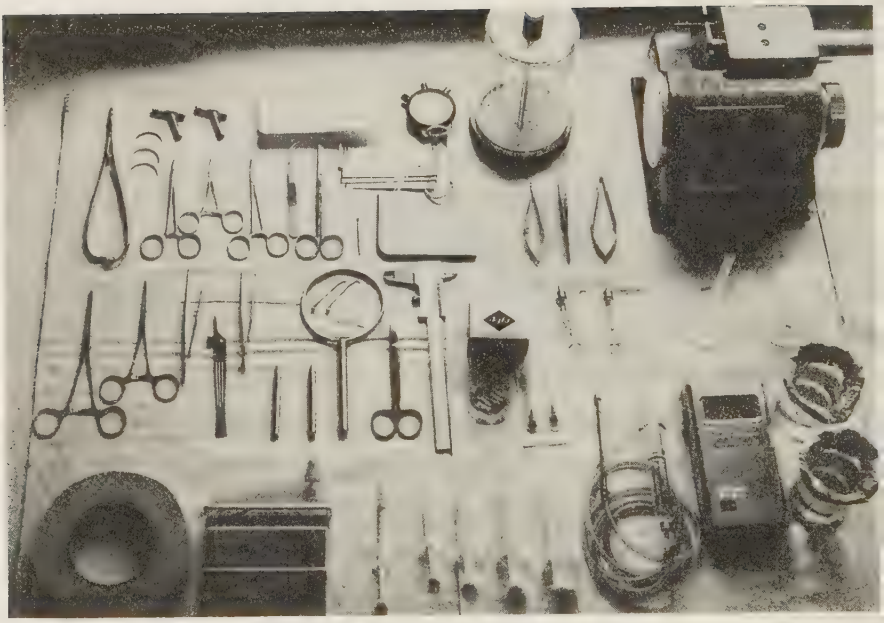


Abb. 4 Instrumentarium

Von links oben nach rechts unten: Nadelhalter, Trachealkanülen, Stoppuhr, Injektionskapillaren, Federscheren, Infusomat, Nonius, Temperaturmeßgerät und vieles mehr.

chung des Muskelrelaxans tracheotomiert (Instrumentarium vgl. Abb. 4) und an ein Beatmungsgerät angeschlossen (Bird, Mark 7 respirator). Die Kohlendioxidkonzentration in der Ausatemluft wurde mit Hilfe eines Uras (Fa. Hartmann und Braun) registriert und schwankte zwischen 4 % und 5 %.

Nach einem Hautschnitt in der rechten Leiste, wurden sowohl die vena als auch die arteria femoralis stumpf freipräpariert und mit je einem Verweilkatheter versehen. Dabei wurden die Gefäße distal der Einstichstelle ligiert und die Katheter mittels einfacher Fäden adaptiert. Über den venösen Zugang wurde einerseits alle 45 Minuten das Muskelrelaxans infundiert, andererseits lief während des ganzen Versuchs über einen Perfusor eine Tyrode-Lösung (2,5 ml/kg Körpergewicht und Stunde) mit folgender Zusammensetzung: Na^+ 149 mM, K^+ 2,7 mM, Ca^{++} 0,9 mM, Mg^{++} 0,3 mM, Cl^- 142 mM, HCO_3^- 12 mM, $H_2PO_4^-$ 0,3 mM. Aus der arteria femoralis wurden immer wieder Blutproben entnommen, die für Blutgasanalysen verwendet wurden (AVL GasCheck 939, Graz, Österreich). Dabei bewegte sich der pH-Wert zwischen 7,24 und 7,36 mit einem Mittelwert von 7,31; der pO_2 schwankte zwischen 94,0 und 131,7 (Mittelwert 110,4) und für den pCO_2 ergaben sich Werte zwischen 30,0 und 43,8 mit einem Mittelwert von 37,6. Außerdem konnte über diesen Zugang der arterielle Blutdruck permanent gemessen und somit kontrolliert werden. Es wurden nur Katzen verwendet,

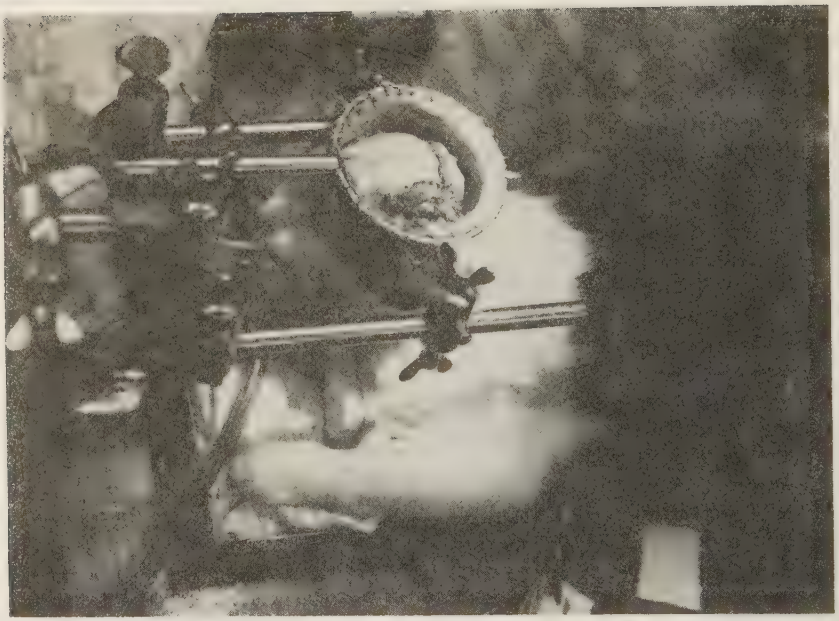


Abb. 5 Versuchstier. Der Kopf ist eingespannt in ein Metallgerüst, die Schädelkalotte ist freipräpariert. Die Haut wurde an den darüberliegenden Metallring angenäht und bildet auf diese Weise eine Wanne für das, die Hirnoberfläche bedeckende Paraffinöl.

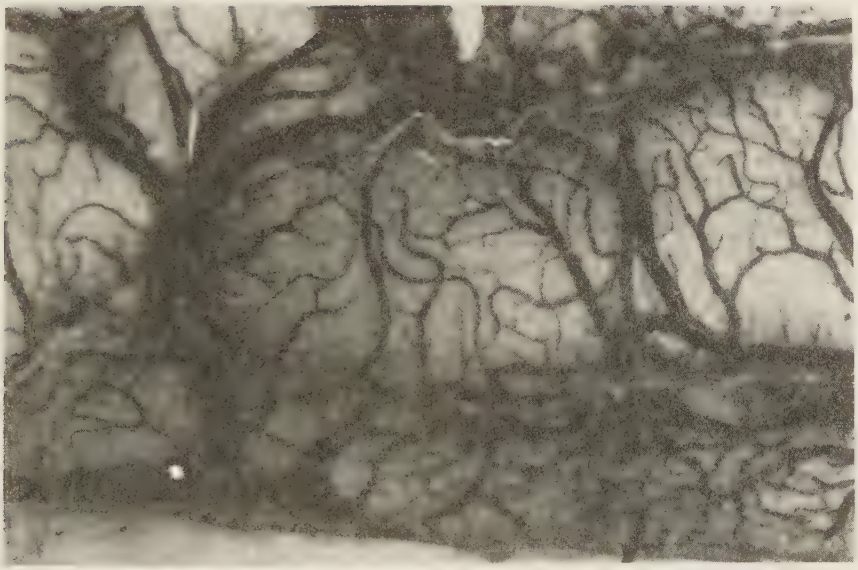


Abb. 6 Ausschnitt der Hirnoberfläche, wie er sich dem Untersucher nach Trepanation und Entfernung der Dura darbietet.

die einen arteriellen Blutdruck von mehr als 100 mm Hg aufwiesen. Zusätzlich wurde darauf geachtet, daß die Körpertemperatur (rektal gemessen) 37 ^{o} C nicht unter-, und 38 ^{o} C nicht überschreiten konnte.

Die Katzen wurden anschließend in Bauchlage gebracht und der Kopf in einem Metallgestell festgeschraubt (vgl. Abb. 5).

Nach einem Hautschnitt über der Sagittalnaht des Schädels wurde die Kalotte stumpf freipräpariert. Hierzu mußten auch die ansetzenden Muskelpartien an ihrem Ursprung durchtrennt werden. Die Hauträndер wurden daraufhin nach oben an das Metallgerüst angenäht, um auf diese Weise eine Art Auffangwanne für das später benötigte Öl zu gewinnen. Unter dem Mikroskop (Fa. Wild-Heerbrugg) wurde nun bei 20-facher Vergrößerung in der rechten parieto-temporalen Region ein Fenster in das Schädeldach gebohrt. Hierzu wurde ein spezieller Knochenbohrer benützt, wie er beispielsweise in der Zahnheilkunde Verwendung findet. Mit größter Sorgfalt, und unter gleichzeitiger permanenter Kühlung der Bohrstelle mit physiologischer Kochsalzlösung, wurde ein ungefähr 1,5 cm x 3,0 cm großes Teil des Knochens herausgelöst. Anschließend wurde in die oben bereits erwähnte Wanne auf die Dura eine Schutzschicht von ca. 1 - 2 cm körperwarmem Paraffinöl aufgeträufelt. Vorsichtig, ohne die Hirnoberfläche zu berühren, wurde die Dura angehoben, eingeschnitten und entfernt. Den Anblick, der sich dem Untersucher nun bot, zeigt die Abb. 6.

2.2. Versuchsablauf

Für die Versuche war es nötig, die verwendeten Substanzen in die unmittelbare Nähe von Gefäßen zu bringen. Dies geschah durch hauchdünne Glaskapillaren, deren Spitzen noch zusätzlich angeschliffen wurden, sodaß der äußere Spritzen-

durchmesser 8 - 10 µm betrug. In Abb. 7a und 7b ist eine solche Kapillare noch schwach zu erkennen. Da es unmöglich ist, eine solche Kapillare mit freier Hand zu führen und anschließend ruhig zu halten, wurde sie auf einen Mikromanipulator (Fa. Leitz) montiert. Mit Hilfe dieses Gerätes ist es möglich, die Kapillare in alle vier Himmelsrichtungen und zusätzlich noch nach oben und nach unten zu bewegen. Dabei kann man alle sechs Bewegungen sowohl in Grob-, als auch in Feineinstellung absolvieren. Ist die Kapillare montiert und in Stellung gebracht, so kann man durch Druck auf eine aufgesetzte Spritze die vorher eingefüllte Testlösung unter mikroskopischer Kontrolle an jeden gewünschten Ort bringen. Das auf diese Weise injizierte Volumen beträgt hierbei ca. 1 - 3 µl. Die verwendeten Substanzen wurden in einer künstlichen cerebrospinalen Flüssigkeit mit folgender Zusammensetzung gelöst: Na^+ 156 mM, K^+ 3 mM, Ca^{++} 1,5 mM, HCO_3^- 15 mM, Cl^- 147 mM, pH 7,28. Dieser künstliche Liquor wurde täglich frisch hergestellt und zur Vermeidung einer eventuellen Autoxidation permanent mit 95 % N_2 und 5 % CO_2 durchperlt.

Zu Beginn und auch im Verlauf eines jeden Versuches wurde die allgemeine Reaktionsfähigkeit der Hirngefäße beobachtet, indem man die Anwort der Arterien auf sauren, bzw. basischen künstlichen Liquor testete. Man verwendete dazu die oben erwähnte Zusammensetzung, wobei die Bikarbonatkonzentration auf 5 mM HCO_3^- gesenkt bzw. auf 22 mM HCO_3^- erhöht wurde. Die Arterien zeigten dabei die erwarteten und

Abb. 7a

Abb. 7b

Abb. 7a Beispiel einer untersuchten Vene in ihrer ursprünglichen Größe vor Versuchsbeginn, sowie Darstellung der Kapillare , wie sie sich an diese Vene anlagert.

Abb. 7b Die gleiche Vene, 40 Sekunden nach Injektion von 10^{-5} M Noradrenalin.

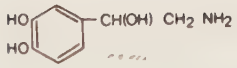
bekannten Reaktionen, nämlich eine Konstriktion auf alkalische und eine Dilatation auf saure Lösungen (46). Jede Versuchsreihe begann mit der perivaskulären Injektion einer Kontrollösung, die so gewählt wurde, daß sie möglichst keine, oder nur ganz geringe Reaktionen der Venen bewirkt. Eine Lösung, die diese Kriterien erfüllt, ist der oben näher beschriebene künstliche Liquor mit einer Bikarbonatkonzentration von 15 mM (pH 7,28). Mittels eines auf das Mikroskop aufgesetzten Fotoapparates (Fa. Leitz) wurden nun Aufnahmen vor Beginn einer jeden Injektion gemacht (Kontrollaufnahme), sowie 20, 40 und 60 Sekunden danach. Die eigentliche Testsubstanz wurde erst unmittelbar vor Gebrauch in die Kapillaren gefüllt und in aufsteigenden Konzentrationen injiziert. Wie bei der Kontrollösung, so wurden auch hier für jede einzelne Konzentration, inclusive vorheriger Kontrolle, vier Aufnahmen gemacht. Bei allen Versuchsreihen wurde darauf geachtet, daß die Zeitspanne zwischen den Injektionen der verschiedenen Konzentrationen immer gleich war. Für die Auswertung wurde der Mittelwert der prozentua-

	$alpha_1$	$alpha_2$
Agonist	Phenylephrin	Oxymetazolin
Antagonist	Prazosin	Yohimbin

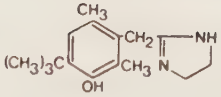
Tab. 1 Zuordnung der in den Versuchen verwendeten Testsubstanzen

len Veränderung des Gefäßdurchmessers nach 20, 40 und 60 Sekunden gegenüber dem Ausgangsdurchmesser errechnet. Dieses Vorgehen war deshalb gerechtfertigt, weil sich die quantitative Gefäßreaktion schon nach wenigen Sekunden einstellte, sodaß die Meßwerte nach 20, 40 und 60 Sekunden nur geringfügig differierten und somit steady-state-Werte darstellten. Als erste Testsubstanz fungierte Noradrenalin (vgl Abb. 8), der Transmitter des sympathischen Nervenendes. Als alpha-Rezeptor Agonisten wurden Phenylephrin ($alpha_1$) bzw. Oxymetazolin ($alpha_2$) verwendet (vgl. Tab. 1 und Abb. 8). In der Gruppe der alpha-Rezeptor Antagonisten fiel die Wahl auf Prazosin ($alpha_1$) und Yohimbin ($alpha_2$; vgl. Tab. 1 und Abb. 8).

Noradrenalin

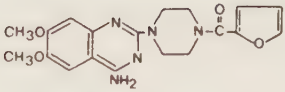


Oxymetazolin



Phenylephrin

Prazosin



Yohimbin

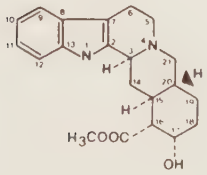


Abb. 8 Strukturformen1 der für die Versuche verwendeten Substanzen

Die Größe der in den Versuchen beobachteten Venen schwankte zwischen 61 µm und 816 µm, die durchschnittliche Größe lag bei 257 µm. Die Zahl der insgesamt beobachteten Venen belief sich auf 230 und die Zahl der Messungen auf ungefähr 6000. Als Maß für die Reaktionsfähigkeit der Gefäße wurde die Veränderung des Venendurchmessers nach den jeweiligen Injektionen (vgl. Abb. 7b), verglichen mit dem Ausgangsdurchmesser vor der allerersten Injektion (vgl. Abb. 7a) herangezogen. Dieser Unterschied wurde nach Abzug der Eigenwirkung der verwendeten Kontrollösung (15 mM HCO_3^-) in Prozentzahlen ausgedrückt. Die statistische Auswertung beruht auf einem Vergleich der Werte für das Lösungsmittel allein und den Werten für das Lösungsmittel, versetzt mit den jeweiligen Testsubstanzen. Hierfür wurde der nonparametrische Wilcoxon Matched Pairs Signed Ranks-Test verwendet. Als Signifikanzschwellen wurden p kleiner 0,01 bzw. kleiner 0,05 gewählt.

3. Ergebnisse

Die Substanzen, die für die pharmakologische Klassifizierung von alpha$_1$ und alpha$_2$-Rezeptoren verwendet wurden, sind in Tab. 1 aufgeführt. Für all diese Substanzen und zusätzlich für Noradrenalin wurden Dosis-Wirkungs-Kurven erstellt. Die Abb. 9 zeigt die Kurve der Mittelwerte ver-

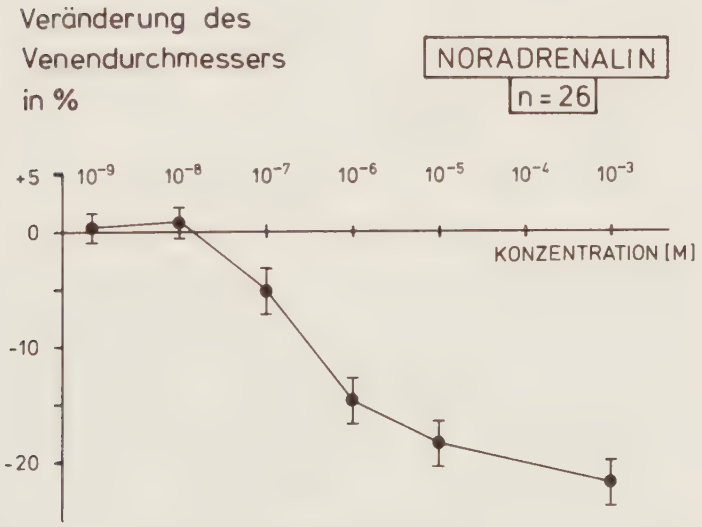


Abb. 9 Dosiswirkungskurve von Noradrenalin an Piavenen (perivaskulär appliziert). Ordinate: Mittelwerte der prozentualen Veränderungen des Gefäßdurchmessers; $\bar{x} \pm SD$; n = Zahl der untersuchten Venenabschnitte

schiedener Noradrenalin-Konzentrationen. Ein erster konstriktorischer Effekt zeigt sich mit -5,2 % ± 2,1 % (SEM) bei 10^{-7} M Noradrenalin, der größte Effekt mit - 21,8 % ± 2,1 % (SEM) bei 10^{-3} M Noradrenalin. Sämtliche Konstriktionen waren verglichen mit dem Ausgangsdurchmesser, statistisch signifikant mit p kleiner 0,05 bei 10^{-7} M Noradrenalin und p kleiner 0,01 bei 10^{-6}, 10^{-5} und 10^{-3} Nor-

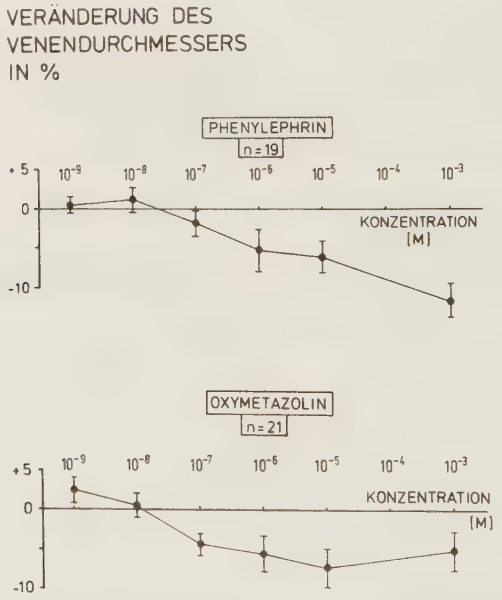


Abb. 10 Dosiswirkungskurven des $alpha_1$-Rezeptor Agonisten Phenylephrin (oben) und des $alpha_2$-Rezeptor Agonisten Oxymetazolin (unten) an Piavenen; $\bar{x}$ ± SD; n = Zahl der untersuchten Venenabschnitte

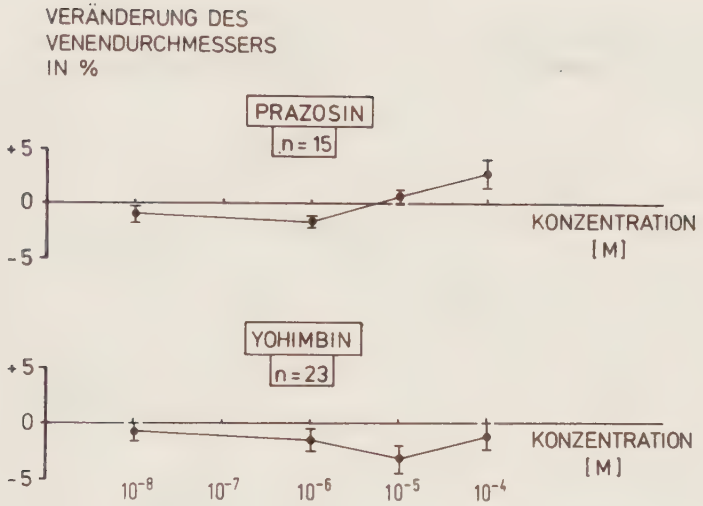


Abb. 11 Dosiswirkungskurven des $alpha_1$-Rezeptor Antagonisten Prazosin (oben) und des $alpha_2$-Rezeptor Antagonisten Yohimbin (unten) an Piavenen; $\bar{x} \pm SD$; n = Zahl der untersuchten Venenabschnitte

adrenalin (vgl. Tab. 2). Bei den Agonisten erzeugten sowohl Phenylephrin als auch Oxymetazolin eine Konstriktion (vgl. Abb. 10), beginnend bei beiden mit einer Konzentration von 10^{-7} M. Waren die Konstriktionen von Oxymetazolin nur bei 10^{-3} M signifikant (p kleiner 0,05), so waren die Konstriktionen von Phenylephrin alle signifikant, und zwar mit p kleiner 0,01 bei 10^{-3} M und p kleiner 0,05 bei 10^{-7} M,

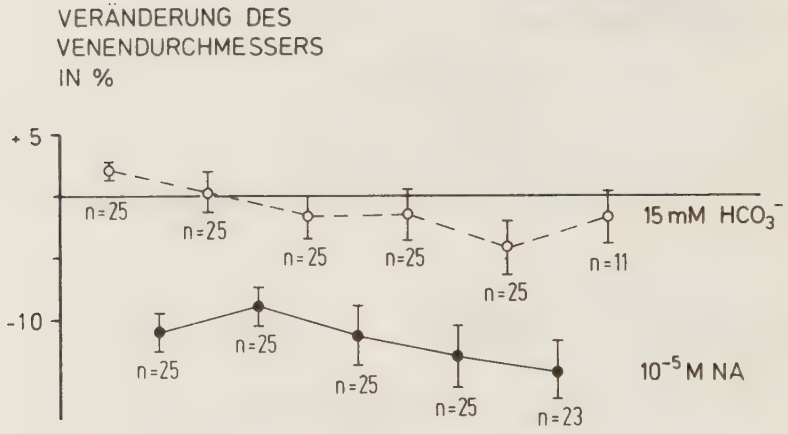


Abb. 12 Reaktionen nach abwechselnder Gabe des verwendeten Lösungsmittels (15 mM HCO_3^-; helle Kreise) einerseits, und eines Gemischs aus dieser Testlösung mit Noradrenalin (10^{-5} M Noradrenalin; dunkle Kreise) andererseits. Die mehrmalige Gabe von Noradrenalin erzeugt immer wieder quantitativ vergleichbare Konstriktionen; $\bar{x} \pm SD$; n = Zahl der untersuchten Venenabschnitte

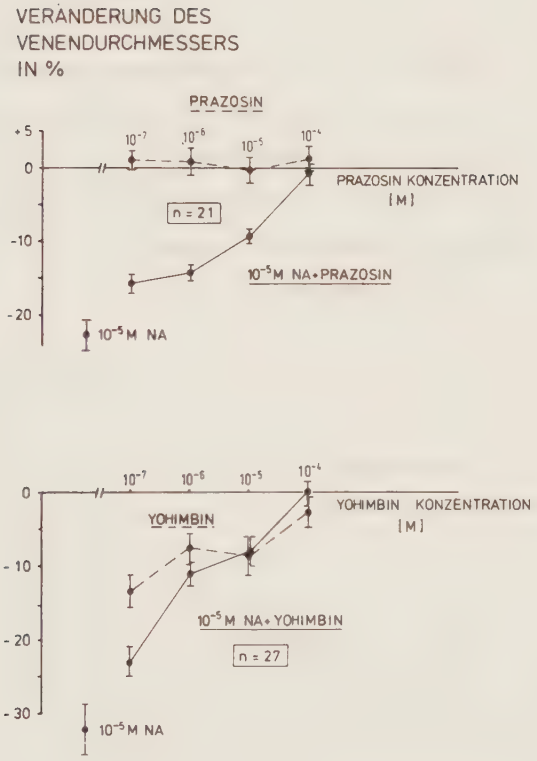


Abb. 13 Einfluß des alpha$_1$-Rezeptor Antagonisten Prazosin (oben) und des alpha$_2$-Rezeptor Antagonisten Yohimbin auf die von Noradrenalin (10^{-5} M) vermittelten Konstriktionen an Piavenen. Zuerst wurde Noradrenalin (10^{-5} M) allein gegeben. Anschließend wurde die niedrigste Konzentration (10^{-7} M) des

jeweiligen Antagonisten injiziert, um Aufschluß über dessen Eigenwirkung unter diesen Bedingungen zu erhalten. Es folgte die Applikation derselben Blocker-Konzentration gemeinsam mit Noradrenalin (10^{-5} M). Für die nächsthöhere (und alle noch folgenden) Blocker-Konzentration, sowie für ihre Kombination mit 10^{-5} M Noradrenalin wurde dann in analoger Weise verfahren; $\bar{x} \pm SD$; n = Zahl der untersuchten Venenabschnitte

10^{-6} M und 10^{-5} M (vgl. Tab. 2). Wie die Abb. 11 zeigt, lösten die beiden alpha-Rezeptor Antagonisten Prazosin und Yohimbin so gut wie keinen Effekt am glatten Gefäßmuskel aus. Während sich bei Prazosin für die Konzentrationen 10^{-6} M (Konstriktion) und 10^{-4} M (Dilatation) noch eine statistische Signifikanz von p kleiner 0,05 fand, waren die bei Yohimbin gefundenen, minimalen Konstriktionen für keine einzige der getesteten Konzentrationen signifikant (vgl. Tab. 2).

Eine etwaige Beteiligung der $alpha_1$- und $alpha_2$-Rezeptoren an der von Noradrenalin vermittelten Konstriktion an Piavenen wurde überprüft, indem Noradrenalin und der jeweilige alpha-Rezeptor Antagonist gleichzeitig verabreicht wurden. Gemeinsam, in der gleichen Kapillare, wurden Noradrenalin

in einer Konzentration von 10^{-5} M und der jeweilige alpha-Rezeptor Antagonist in aufsteigenden Konzentrationen von 10^{-7} M bis 10^{-4} M perivaskulär injiziert. Ein derartiges experimentelles Vorgehen ist jedoch nur aussagekräftig, wenn die wiederholte alleinige Gabe von 10^{-5} M Noradrenalin auch wirklich vergleichbare Konstriktionen erzeugt. Daß dies durchaus der Fall ist, zeigt die Abb. 12. Eine jede, durch Noradrenalin verursachte Konstriktion,

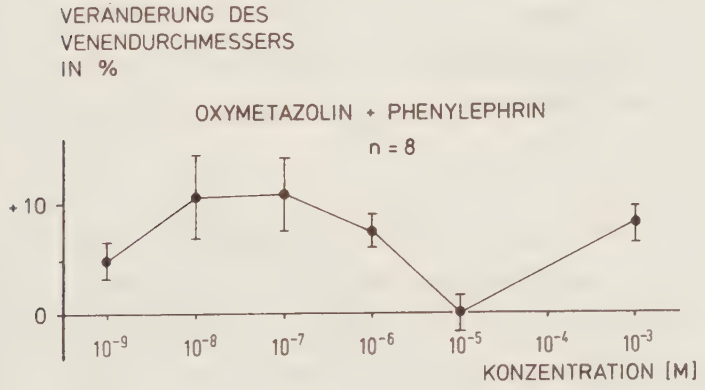


Abb. 14 Dosiswirkungskurve für eine Kombination des $alpha_1$-Rezeptor Agonisten Phenylephrin mit dem $alpha_2$-Rezeptor Agonisten Oxymetazolin an Piavenen. Die beiden Substanzen wurden mit der gleichen Konzentration in ein- und derselben Kapillare injiziert; $\bar{x} \pm SD$; n = Zahl der untersuchten Venenabschnitte

war signifikant verschieden von der Reaktion auf die jeweils vorausgegangene Applikation des verwendeten Lösungsmittels (p kleiner 0,01). Demgegenüber waren die Konstriktionen von 10^{-5} M Noradrenalin, verglichen mit der jeweils vorausgegangenen Noradrenalinkonstriktion, in keinem einzigen Fall signifikant voneinander verschieden. Nach der gleichzeitigen Gabe von Noradrenalin und Blocker ergab sich, daß sowohl der $alpha_1$-Rezeptor Antagonist Prazosin als auch der $alpha_2$-Rezeptor Antagonist Yohimbin imstande waren, die von Noradrenalin vermittelte Konstriktion zu blockieren (vgl. Abb. 13). Dabei war eine Verminderung dieser Konstriktion bei beiden Antagonisten für alle verwendeten Konzentrationen statistisch signifikant (p kleiner 0,01, vgl. Tab. 2).

Die Abb. 14 zeigt die Reaktion der Piavenen nach gleichzeitiger Gabe der beiden alpha-Rezeptor Agonisten Phenylephrin und Oxymetazolin. Entgegen der Vermutung, daß sich hieraus eine erhöhte Konstriktion gegenüber den Einzelgaben ergeben würde, reagierten die Gefäße, außer bei einer Konzentration von 10^{-5}, bei sämtlichen anderen Konzentrationen mit einer signifikanten Dilatation (p kleiner 0,05).

	10^{-9} M	10^{-8} M	10^{-7} M	10^{-6} M	10^{-5} M	10^{-4} M	10^{-3} M
Noradrenalin	———	———	$p<0,05$	$p<0,01$	$p<0,01$	———	$p<0,01$
Phenylephrin	———	———	$p<0,05$	$p<0,05$	$p<0,05$	———	$p<0,01$
Oxymetazolin	———	———	nicht	nicht	nicht	———	$p<0,05$
Prazosin	———	nicht	———	$p<0,05$	nicht	$p<0,05$	———
Yohimbin	———	nicht	———	nicht	nicht	nicht	———
10^{-5} M NA + Prazosin	———	———	$p<0,01$	$p<0,01$	$p<0,01$	$p<0,01$	———
10^{-5} M NA + Yohimbin	———	———	$p<0,01$	$p<0,01$	$p<0,01$	$p<0,01$	———

Tab. 2 Statistische Auswertung, Signifikanzgrenzen: p 0,01 bzw. p 0,05,
nicht = nicht signifikant, ——— = nicht ausgewertet, NA = Noradrenalin

4. Diskussion

4.1. Diskussion der Methodik

Bei allen, für diese Arbeit unternommenen Versuchen wurde die unter 2.2. beschriebene Mikroapplikationstechnik verwendet. Sie hat den großen Vorteil, daß die verwendeten Substanzen, ähnlich, wie die aus Nervenenden freigesetzten Transmitter, von außen her direkt an die Hirngefäße appliziert werden können. Dies ist vor allem deswegen von Bedeutung, weil die Frage der neurogenen Kontrolle der Gehirndurchblutung durch intravasale Applikation von Überträgersubstanzen nicht geklärt werden kann. Mit Hilfe der Mikroapplikationstechnik ist es möglich, wenige Mikroliter der jeweiligen Testlösungen direkt an die Piavenen zu injizieren. Dadurch können sekundäre Effekte durch Blutdruckänderungen, Änderungen im Säure-Basen-Status oder in der Neuronenaktivität vermieden werden. Ein weiterer Vorteil dieser Technik besteht darin, daß man viele Gefäßpartien an ein- und demselben Versuchstier testen kann. Ebenso ist es möglich, vor Beginn und auch während des Versuches die Reaktionsfähigkeit der Arterien auf pH-Änderungen zu untersuchen, weil die applizierte Substanz jeweils nur lokal an der Injektionsstelle vorhanden ist, und benachbarte Gefäße nicht beeinträchtigt. Die Mikroapplikationstechnik ermöglicht es also, die Vorteile der in vivo-Untersuchungen (keine Änderung der physiologischen Bedingungen durch das Trauma der Isolierung)

mit den Vorteilen der in vitro-Untersuchungen (keine störenden sekundären Reaktionen, leicht überschaubare Versuchsbedingungen, klare Kausalitäten der Reaktionen) miteinander verbinden.

4.2. Diskussion der Ergebnisse

4.2.1. Noradrenalin

Während die Rolle der Hirnarterien und ihrer Vasomotorik für die Durchblutungsregulation des Gehirns offensichtlich ist, fällt eine physiologische Bedeutung der Venomotorik weniger ins Auge. Diese Venomotorik dürfte für die Einstellung und Regulation des intrakraniellen Drucks von Bedeutung sein. Wie schon erwähnt, wurde die sympathische Innervation von Hirnvenen bereits nachgewiesen, wobei diese nicht ganz so dicht war, wie die der Arterien (19). Ebenfalls erwähnt wurde bereits, daß sich nach Stimulation des Halssympathikus eine deutliche Konstriktion der Piavenen ergab (3). Dadurch war jedoch noch nicht klar, ob der Venentonus aktiv durch den Sympathikus beeinflußt wird, oder ob sich die Venen nur passiv konstringierten, als Folge einer vorausgegangenen arteriellen Konstriktion.

In der vorliegenen Arbeit nun wurde gezeigt, daß sich die Piavenen der Katze nach perivaskulärer Gabe von Noradrenalin

deutlich kontrahieren (vgl. Abb. 9). Zusammen mit den obigen Befunden kann man dies als Unterstützung der These einer aktiven sympathischen Vasokonstriktion werten. Das Ausmaß der venösen Konstriktionen ist auch vergleichbar mit den Werten der arteriellen Konstriktionen, die in früheren Untersuchungen unter vergleichbaren experimentellen Bedingungen gewonnen wurden (27). Die hier gefundenen Ergebnisse stehen außerdem im Gleichklang mit den Erfahrungen von Edvinsson (39), der sogar eine etwas höhere Reaktivität der Venen feststellte.

4.2.2. Alpha-Rezeptoren

Man kann davon ausgehen, daß die erzielte venöse Konstriktion nach perivaskulärer Applikation von Noradrenalin durch alpha-Rezeptoren vermittelt wird, da Auer (3) in seinen Versuchen fand, daß sich die jeweiligen Konstriktionen nach Gabe des beta-Rezeptoren-Blockers Propranolol nicht veränderten, während sie durch die Gabe des alpha-Rezeptoren-Blockers Phenoxybenzamin aufgehoben werden konnten. In ähnlicher Weise konnte auch Edvinsson Venenkonstriktionen mit Hilfe des alpha-Rezeptoren-Blockers Phentolamin signifikant vermindern. Damit befinden sich die Ergebnisse für Piavenen in Übereinstimmung mit den Erfahrungen von anderen Gefäßen, wo Noradrenalin an Venen ebenfalls eine durch alpha-Rezeptoren vermittelte Konstriktion hervorruft (2, 8, 37).

Eine Klassifizierung der alpha-Rezeptoren wurde bezüglich der Venen des Gehirns bisher noch nicht vorgenommen. Deshalb können die Ergebnisse dieser Arbeit auch nur mit Ergebnissen von Hirnarterien oder von Gefäßen anderer Organe verglichen werden. Die hier diskutierten Versuche wurden unter in vivo-Bedingungen vorgenommen. Dieses Vorgehen erlaubt eine exakte Charakterisierung von Pharmakon-Rezeptoren, wie es unter in vitro-Bedingungen möglich ist, leider nicht. Dafür erlaubt diese Versuchsanordnung eine Untersuchung der Hirnvenen unter normalen, physiologischen Bedingungen. Dies mag als Erklärung gelten für gewisse Unterschiede, die an Piaarterien unter in vivo- bzw. in vitro-Bedingungen gefunden wurden (28).

4.2.3. Alpha-Rezeptor-Antagonisten

Unter in vivo-Bedingungen kann zwischen prä- und postsynaptischen Rezeptoren nicht so einfach unterschieden werden, wie an isolierten Gefäßen in vitro. Dennoch erscheint es als sehr wahrscheinlich, daß die präsynaptischen Effekte in den vorliegenden Experimenten von untergeordneter Bedeutung sind. Was die hier verwendeten Substanzen betrifft, so könnte ein präsynaptischer Effekt am ehesten noch von Yohimbin erwartet werden (16, 40). So konnte beispielsweise während der Stimulation des Halssympathikus ein Einfluß von Yohimbin auf die Gehirndurchblutung nachgewiesen werden (34). Die Gehirndurchblutung wurde während Sympathikusstimulation nach

Gabe von Yohimbin drastisch reduziert. Diese Reduzierung kann als ein Effekt von Yohimbin an präsynaptischen alpha-Rezeptoren gewertet werden, da Yohimbin diese Rezeptoren besetzt, und somit den in der Einleitung beschriebenen negativen feedback-Mechanismus hemmt. Dies wiederum hat eine vermehrte Freisetzung von Noradrenalin bei Sympathikusreizung zur Folge, weswegen sich die Gefäße vermehrt kontrahieren und auf diese Weise die Gehirndurchblutung drosseln (31, 38). Andererseits wurde die Durchblutung unter Kontrollbedingungen ohne Sympathikusstimulation nicht beeinflußt, was darauf hinweist, daß unter Normalbedingungen nur wenig Noradrenalin freigesetzt wird (33). Diese Ergebnisse, die sich auf Widerstandsgefäße, also Arteriolen beziehen, stimmen mit den in dieser Arbeit gefundenen Befunden überein: die perivaskuläre Applikation von Yohimbin hatte keine signifikante Veränderung des Venendurchmessers zur Folge (vgl: Abb. 11). Dies bestätigt die Vermutung, daß präsynaptische Effekte unter Normalbedingungen von untergeordneter Bedeutung sind. Die Blockade einer vermuteten präsynaptischen Hemmung der Noradrenalin-Freisetzung hätte eine Kumulation von Noradrenalin zur Folge, was sich wegen der konstringierenden Wirkung von Noradrenalin in einer Verringerung des Venendurchmessers bemerkbar machen würde (vgl. Abb. 9). Würde man die minimale, nicht signifikante Verminderung des Durchmessers an Piavenen während der Applikation von Yohimbin (-3,1 % bei 10^{-5}M Yohimbin) ausschließlich einer erhöhten Noradrenalin-Freisetzung zuschreiben,

so entspräche dies lediglich einer Konzentration von 4×10^{-8} M Noradrenalin. Daß die präsynaptische Wirkung von Yohimbin während der hier vorliegenden Versuche vernachlässigt werden kann, wird außerdem noch unterstützt durch die Tatsache, daß die konstringierende Wirkung von exogen zugeführtem Noradrenalin durch Yohimbin reduziert werden kann (vgl. Abb. 13 unten). Hätte Yohimbin während der hier gezeigten Versuche eine präsynaptische Wirkung gezeigt, so hätte man wegen der verminderten präsynaptischen Aufnahme von Noradrenalin eher eine vermehrte Konstriktion der Venen erwarten müssen.

Was den $alpha_1$-Rezeptor-Antagonisten Prazosin betrifft, so wird hier allgemein respektiert, daß dessen Wirkung hauptsächlich an der postsynaptischen Effektorzelle auftritt (12, 41).

Während eine postsynaptische Wirkung der beiden alpha-Rezeptor-Antagonisten Yohimbin und Prazosin in den vorliegenden Untersuchungen als sehr wahrscheinlich bezeichnet werden darf, ist ihre Selektivität gegenüber $alpha_1$- und $alpha_2$-Rezeptoren nicht ganz so offensichtlich. Wie die Abb. 13 zeigt, kann jeder Antagonist die konstringierende Wirkung von Noradrenalin total blockieren, vorausgesetzt, er wird in einer genügend hohen Konzentration gegeben. Diese Tatsache läßt auf eine unspezifische Wirkung der Blocker in hohen Dosen schließen.

4.2.4. Alpha-Rezeptor-Agonisten

Die Ergebnisse der Versuche mit 10^{-5} M Noradrenalin und der gleichzeitigen Gabe des jeweiligen Antagonisten reichen nicht aus für eine Klassifizierung der alpha-adrenergen Rezeptoren. Deshalb wurden in dieser Arbeit, zur Erlangung weiterer Information, zusätzlich Versuche mit $alpha_1$- und $alpha_2$-Rezeptor-Agonisten unternommen. Die Ergebnisse nach Applikation von Phenylephrin zeigen eine signifikante Konstriktion, die auf eine Stimulation von $alpha_1$-Rezeptoren zurückzuführen ist. Die gefundenen Konstriktionen nach Stimulation des $alpha_2$-Rezeptors mittels Oxymetazolin waren außer bei der höchsten verwendeten Konzentration (10^{-3} mM) nicht signifikant. Wie im Falle der Blocker, so kann man auch hier einen unspezifischen Effekt bei dieser hohen Konzentration vermuten.

Aus diesen Erkenntnissen kann man schließen, daß die Konstriktionen an den Venen der Pia eher durch $alpha_1$-Rezeptoren als durch $alpha_2$-Rezeptoren vermittelt werden. Allerdings sind die Konstriktionen, die für den $alpha_1$-Rezeptor-Agonisten Phenylephrin gemessen wurden, nicht so hoch, als daß sie die hohen Konstriktionen nach Gabe von Noradrenalin erklären könnten. Während Noradrenalin bei einer Konzentration von 10^{-5} M eine durchschnittliche Verminderung des Gefäßdurchmessers von 18,9 % ± 2,1 % (SEM) zur Folge hatte

(vgl. Abb. 9), wurde für Phenylephrin bei der gleichen Konzentration nur ein Wert von 6,1 % ± 2,0 % (SEM) gefunden (vgl. Abb. 10). Hieraus kann gefolgert werden, daß die Ergebnisse, welche durch in vivo-Untersuchungen an Piavenen gewonnen wurden, nicht gänzlich in Einklang stehen mit dem Konzept der Unterteilung von alpha-Rezeptoren in die Typen $alpha_1$ und $alpha_2$.

Die Vermutung, daß man durch die gleichzeitige Gabe eines $alpha_1$-Rezeptor-Agonisten und eines $alpha_2$-Rezeptor-Agonisten die Werte für Noradrenalin erreichen könnte, hat sich als falsch erwiesen. Ganz im Gegenteil, die gemeinsame Applikation von Oxymetazolin und Phenylephrin hatte sogar eine Dilatation zur Folge (vgl. Abb. 14). Die Ursache für diese unerwartete Dilatation ist nicht geklärt, aber wahrscheinlich liegt sie in irgendeiner unbekannten chemischen oder vaskulären Interaktion zwischen den beiden Agonisten.

Ebenso wie die Antagonisten, so scheinen auch die $alpha_1$- und $alpha_2$-Agonisten ihre Wirkung vorwiegend über postsynaptische alpha-Rezeptoren zu vermitteln. Zu dieser Schlußfolgerung kommt man, wenn man berücksichtigt, daß der $alpha_2$-Rezeptor-Agonist Oxymetazolin, der von den verwendeten Agonisten noch am ehesten eine präsynaptische Wirkung zeigen könnte (41), keinerlei signifikante Wirkung aufzuweisen hat (vgl. Abb. 10), was einen wesentlichen Einfluß auf präsynaptische Mechanismen während der vorliegenden Versuche unwahrscheinlich macht.

4.3. Allgemeine Diskussion

Unter abgeänderten Versuchsbedingungen mit einer erhöhten Transmitterfreisetzung, wurde unter in vivo-Bedingungen an Arterien der Pia ein Effekt des $alpha_2$-Rezeptor Agonisten Clonidin nachgewiesen. Bei diesen Versuchen konnten die, durch bilaterale Stimulation des Halssympathikus hervorgerufenen Konstriktionen, durch intravenöse Gabe von Clonidin vermindert werden (36).

Wenn man alle vorliegenden Informationen berücksichtigt, so kann man sagen, daß der postsynaptische alpha-Rezeptor an den Venen der Pia mit Hilfe des bestehenden Konzeptes über $alpha_1$- und $alpha_2$-Rezeptoren nicht ausreichend klassifiziert werden kann. Dies gilt für Untersuchungen in vivo, wie es bei der vorliegenden Arbeit der Fall war. An der isolierten vena femoralis bzw. vena saphena dagegen ist eine Untergruppierung nach diesem Konzept gelungen (13).

Die Ergebnisse aus den hier gemachten Versuchen zeigen als wichtigstes Ergebnis, daß die Regulation des intrakraniellen Blutvolumens über die Freisetzung von konstringierendem Noradrenalin an den Piavenen erfolgen kann.. Für selektivere Eingriffsmöglichkeiten im Rahmen der Beeinflussung des intrakraniellen Druckes bieten sich zwar $alpha_1$- und $alpha_2$-Rezeptor stimulierende und blockierende Substanzen an; die Unterschiede zwischen den Wirkungen der getesteten Substanzen

sind aber zu gering, um gegenwärtig definitive Aussagen machen zu können.

Aufgrund der noch herrschenden Ungewißheit bezüglich der alpha-Rezeptoren, die die Wirkung von Noradrenalin an Piavenen vermitteln, wäre es wünschenswert, wenn dieser Arbeit Untersuchungen an der isolierten Piavene folgen würden, mit dem Ziel der exakten pharmakologischen Analysierung. Bisher sind solche Untersuchungen an der geringen Spannungsentwicklung dieser Gefäße gescheitert.

5. Zusammenfassung

In früheren Arbeiten wurden sowohl eine sympathische Innervation an Piavenen der Katze als auch eine Konstriktion dieser Gefäße nach Stimulation des Halssympathikus gefunden.

Die vorliegende Arbeit zeigte eine signifikante Konstriktion der Venen auf exogenes Noradrenalin (10^{-7} M - 10^{-3} M). Um selektive Eingriffsmöglichkeiten an den pialen Venen zu erhalten, wurden $alpha_1$- und $alpha_2$-Rezeptor Agonisten bzw. Antagonisten mit Hilfe der Mikroapplikationstechnik perivaskulär an Piavenen injiziert. Die beiden $alpha_1$- und $alpha_2$-Rezeptor Antagonisten, Prazosin und Yohimbin, führten dabei nur zu minimalen Reaktionen. Beide Antagonisten konnten aber die durch Noradrenalin (10^{-5} M) erzeugte Konstriktion, abhängig von den applizierten Konzentrationen (10^{-7} M - 10^{-4} M), blockieren. Der $alpha_1$-Rezeptor Agonist Phenylephrin rief eine signifikante (10^{-7} M - 10^{-3} M) Konstriktion an den Venen der Pia hervor, mit einem Maximum von 11,6 % $\pm$ 2,2 % (SEM) bei 10^{-3} M. Die Reaktionen von Phenylephrin, Oxymetazolin, sowie einer Kombination dieser beiden Agonisten, konnten die Höhe der von Noradrenalin vermittelten Konstriktionen jedoch nicht ausreichend erklären. Die Ergebnisse zeigen, daß eine Regulation des intrakraniellen Blutvolumens über die Freisetzung von konstringierendem Noradrenalin an den Piavenen möglich ist. Für selektivere Ein-

griffsmöglichkeiten bieten sich zwar $alpha_1$- und $alpha_2$-Rezeptor stimulierende und blockierende Substanzen an; die Unterschiede zwischen den Wirkungen der getesteten Substanzen sind aber zu gering, um gegenwärtig definitive Präferenzen setzen zu können.

Literaturverzeichnis

1. Ahlquist, R.P.: A study of the adrenotropic receptors. Amer. Jour. Physiol. 153: 586 - 600 (1948)

2. Altura, B.M.: Pharmacology of venular smooth muscle: New insights. Microvascular Research 16: 91 - 117 (1978)

3. Auer, L.M., B.B. Johansson, W. Kuschinsky and L. Edvinsson: Sympathoadrenergic activity of cat pial veins. Journal of Cerebral Blood Flow und Metabolism, Volume 1, Suppl. 1, Raven Press New York (1981)

4. Bentley, S.M., G.M. Drew and S.B. Whiting: Evidence for two distinct types of postsynaptic α-adrenoceptors. Brit. Jour. Pharmacol. 61: 116P - 117P (1977)

5. Berthelsen, S.,W.A. Pettinger: A functional basis for classification of α_1-adrenergic receptors. Life Sciences 21, 595 - 606 (1977)

6. Bevan, J.A. and J.V. Osher: Relative sensitivity of large blood vessels of the rabbit to sympathomimetic amines. Jour. Pharmacol. Exp. Ther., 150: 370 - 374 (1965)

7. Bevan, J.A., R.D. Bevan: Sympathetic control of the rabbit basilar artery. In: Neurogenic Control of the Brain Circulation, ed. Owman, Ch., Edvinsson, L., Pergamon Press, Oxford, 30: 285 - 293 (1977)

8. Bevan, J.A., R.D. Bevan and S.P. Duckles: Adrenergic regulation of vascular smooth muscle. In: Handbook of Physiology, Section 2: The Cardiovascular System, Vol. II pp 515 - 566, Baltimore: Waverly Press (1980)

9. Brown, G.L. and J.S. Gillespie: Jour. Physiol., London 138, 81 (1957)

10. Burger, A., A.P. Parulkar: Anual Review Pharmacol.6: 19 (1966)

11. Burger, A.S.V.: Jour. Pharmacol. 18: 137 (1966)

12. Cambridge, D., M.J. Davey and R. Massingham: Prazosin a selective antagonist of postsyn. α-receptors. Brit. Jour. Pharmacol. 59: 514P - 515P (1977)

13. De Mey, J., P.M. Vanhoutte: Uneven distribution of postjunctional α_1- and α_2-like adrenoceptors in canine arterial and venous smooth muscle. Circulation Research 48: 875-884 (1981)

14. Docherty, J.R. and J.C. McGrath: A comparison of pre- and post-junctional α-adrenoceptor agonists in the cardiovascular system and anococcygen muscle of the rat. Evidence for two types of post-junctional α-adrenoceptors. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac.312: 107-116 (1980)

15. Drew,G.M.,S.B. Whiting: Evidence for two distinct types of postsynaptic α-adrenoceptors in vascular smooth muscle in vivo. Brit. Jour. Pharmac. 67:207-215 (1979)

16. Drew, G.M.: Pre- and postjunctional α-adrenergic receptors in the blood vessel wall. Vasodilatation, ed. Vanhoutte, P.M., Leusen, I., Raven Press, pp. 85 - 96 New York (1981)

17. Dubocovich, M.L. and S.Z. Langer: Negative feed-back regulation of noradrenaline release by nerve stimulation in the perfused cat's spleen: differences in potency of phenoxybenzamine in blocking the pre- and postsynaptic adrenergic receptors. Jour. Physiol. London 237: 505 - 519 (1974)

18. Edvinsson, L., Ch. Owman: Pharmacological characterization of postsynaptic vasomotor receptors in brain vessels. In: Neurogenic Control of the Brain Circulation, ed Owman, Ch., Edvinsson, L., Pergamon Press, Oxford, New York 30: 167 - 183 (1977)

19. Edvinsson, L., J. McCulloch and R. Uddman: Feline cerebral veins and arteries: Comparison of autonomic innervation and vasomotor responses. Jour. Physiol. 325 pp. 161 - 173 (1982)

20. Ehrenpreis, S., J.H. Fleisch, T.W. Mittag: Pharmacol. Rev. 21: 131 (1969)

21. Ehrlich, Paul: Berichte dtsch. chem. Gesellsch. 42: 17 (1909)

22. Fridborg, K., K.K. Fannan, A. Liljas: Jour. molec. Biol. 25: 505 (1967)

23. Furchgott, R.F.: The classification of adrenoceptors (adrenergic receptors). An evaluation from the standpoint of receptor theory. In: Handbook of Experimental Pharmacology Vol. XXIII Catecholamines, pp. 283 - 335, Springer-Verlag Berlin (1972)

24. Hoffman, B. Brian, M.D., C.M., F.R.C.P., and Robert J. Lefkowitz: The New England Journal of Medicine, 1390 - 1396 (1980)

25. Iversen, L.L.: British Jour. Pharmac. Chemother. 25: 18 (1965)

26. Kuschinsky, W., M. Wahl: α-receptor stimulation by endogenous and exogenous norepinephrine and blockade by phentolamine in pial arteries of cats. Circulation Research 37: 168 - 174 (1975)

27. Kuschinsky, W., M. Wahl: Interactions between perivascular norepinephrine and potassium or osmolarity on pial arteries of cats. Microvascular Research 14: 173 - 180 (1977)

28. Kuschinsky, W., M. Wahl: Local chemical and neurogenic regulation of cerebral vascular resistance. Physiological Reviews, Vol. 58, No. 3 (1978)

29. Lands, A.M., A. Arnold, J.P. Mcauliff, F.P. Luduena, T.G. Brown jr.: Nature , London 214: 597 (1967)

30. Langer, S.Z., M.A. Enero, E. Adler-Graschinsky and F.J.E. Stefano: Fifth Int. Congr. Pharmac.: p 47 (1971)

31. Langer, S.Z., E. Adler, M.A. Enero and F.J.E. Stefano: Twenty-fifth Int. Congr. Physiol. Sciences: p 335 (1971)

32. Langer, S.Z.: Presynaptic regulation of catecholamine release. Biochem. Pharmacology, Vol. 23, pp. 1793 - 1800, Pergamon Press (1974)

33. Linder, J., M. Beausang-Linder: Autonomic nervous influence on cerebral and ocular blood flow. Acta Universitatis Uppsaliensis. Abstracts of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine 406, Uppsala (1981)

34. Linder, J.: Cerebral and ocular blood flow during α_2-blockade: Evidence for a modulated sympathtic response. Acta Physiol. Scand. 113: 511 - 517 (1981)

35. Mellander S. and B. Johansson: Control of resistance, exchange and capitance functions in the peripheral circulation. Pharmac. Rev. 20: 117 - 196 (1968)

36. Reichl, R., A. Walland: Inhibition of neurosympathetic cerebroarterial constriction by clonidine in cats. Europ. Jour. Pharmacol. 68: 349 - 357 (1980)

37. Shephard, J.T. and P.M. Vanhoutte: Veins and their control. London: Saunders (1975)

38. Starke, K., H. Montel and H.J. Schürmann: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 270: 210 (1971)

39. Starke, K.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. 275: 11 (1972)

40. Starke, K., T. Endo and H.D. Taube: Relative pre- and postsynaptic potencies of α-adrenoceptor agonists in the rabbit pulmonary artery. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 291: 55 - 78 (1975)

41. Starke, K.: α-adrenoceptor subclassification. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 88: 199 - 236 (1981)

42. Thoenen, H., A. Hürlimann and W. Haefely: Experientia 20: 272 (1964)

43. Timmermanns, P.B., H.Y. Kwa and P.A. van Zwieten: Possible subdivision of postsynaptic α-adrenoceptors mediating pressor responses in the pithed rat. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 310: 189 - 193 (1979)

44. Timmermanns, P.B. and P.A. van Zwieten: The postsynaptic α_2-adrenoceptor. Jour. Auton. Pharmac. 1: 171 - 183 (1981)

45. Wahl, M., W. Kuschinsky, O. Bosse, J. Olesen, N.A. Lassen, D.H. Ingvar, J. Michaelis, K. Thurau: Effect of l-norepinephrine on the diameter of pial arterioles and arteries in the cat. Circulation Research 31: 248 - 256 (1972)

46. Waser, P.G.: Arzneimittel-Forsch. 19: 260 (1969)

47. Wellhöner, H.: Allgemeine und systematische Pharmakologie und Toxikologie; Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York; S. 6 - 12 (1976)

Bei Herrn Prof. K. Thurau möchte ich mich bedanken für die großzügige Bereitstellung des Arbeitsplatzes, bei Frau Wiltraud Endstrasser für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Versuche.
Mein besonderer Dank gilt meiner Frau Erna Ulrich, sowie Herrn Prof. W. Kuschinsky, die mir während der ganzen Zeit mit Geduld bzw. Rat und Tat zur Seite standen.

Lebenslauf

Ich, Klaus Rainer Ulrich, wurde am 15. Juli 1951 als zweites Kind der Eheleute Erich und Hilde Ulrich in Augsburg geboren. Von 1957 bis 1961 besuchte ich die Volksschule Ottmarshausen, von 1961 bis 1971 das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium in Kaufbeuren. Nach einem halben Jahr Bundeswehrzeit in der Sanitätskompanie verweigerte ich den Wehrdienst, und leistete anschließend ein Jahr Zivildienst beim Roten Kreuz, sowie der Stadt Kaufbeuren ab.

Mein Studium begann ich mit zwei Trimestern an der Pädagogischen Hochschule in Augsburg. Es folgten 5 Semester Anglistik und Geographie an der LMU München. Im Sommersemester 1975 begann ich, ebenfalls an der LMU München, mit dem Studium der Humanmedizin.